

4
НОМЕР



ISSN 2304-9081

Электронный журнал
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН



2016

УЧРЕДИТЕЛИ

УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РАН
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2016

УДК 579.61

А.В. Вальшев, Н.А. Вальшева

КОМБИНАЦИЯ АНТИБИОТИКОВ И БАКТЕРИОЦИНОВ – ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ БОРЬБЫ С РЕЗИСТЕНТНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

В обзоре представлены данные об эффективных для лечения инфекционных заболеваний комбинациях антибиотиков и бактериоцинов. За счет синергидного или аддитивного действия такое сочетание лекарственных средств является рациональным для терапии заболеваний, вызванных антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов.

Ключевые слова: антибиотики, бактериоцины, антимикробные пептиды, устойчивость к антибиотикам.

A.V. Valyshev, N.A. Valysheva

COMBINATION OF ANTIBIOTICS AND BACTERIOCINS – EFFECTIVE WAY FOR FIGHTING RESISTANCE MICROORGANISMS

Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, UrB RAS, Orenburg, Russia

This review focuses on the effective combinations of antibiotics and bacteriocins for infectious diseases treatment. Due to synergistic or additive action of aforementioned medications, this mix is rationale for the therapy of infections caused by resistant bacterial strains.

Keywords: antibiotics, bacteriocins, antimicrobial peptides, antibiotic resistance.

В докладе, заказанном британскими властями и подготовленном командой ведущих экспертов под руководством экономиста Джима О'Нила, приводятся данные, что к 2050 году, если не принять срочные меры, на нашей планете каждые три секунды кто-то будет умирать от болезней, вызванных устойчивыми к антибиотикам бактериями [1]. Проблема заключается в том, что новые антибиотики недостаточно производятся, а уже имеющиеся нерационально используются.

Для повышения эффективности известных антимикробных препаратов их комбинируют с различными соединениями, в том числе микробного происхождения. К последним, в частности, относятся бактериоцины – синтезируемые на рибосомах белки или пептиды бактерий, обладающие антимикробным действием в отношении родственных видов [2,3]. Будучи факторами микробного антагонизма, они обеспечивают колонизационную резистентность организма хозяина, регулируя популяции бактерий.

Одним из наиболее хорошо изученных бактериоцинов является низин,

впервые описанный в 1928 г. Первоначальный вариант низина, известный как низин А и состоящий из 34 аминокислотных остатков, продуцируется *Lactococcus lactis* и относится к группе бактериоцинов-лантибиотиков. В качестве антимикробного средства данное соединение поступило на коммерческий рынок в Англии в 1953 г. В 1969 г. низин как безопасная пищевая добавка был одобрен совместно ФАО и ВОЗ. В настоящее время низин лицензирован более чем в 50 странах, где используется в пищевой промышленности как природный биоконсервант для разных продуктов. Например, в 1988 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration) США утвердило статус низина как «общеизвестно безопасным» (generally regarded as safe) для использования в плавленых сырах [4]. В то же время возможность его использования в медицинской практике стала интенсивно исследоваться только в последние годы; ниже приводятся некоторые примеры успешного применения низина.

Исследование влияния низина на антибактериальную активность 18 антибиотиков в отношении трёх штаммов *Enterococcus faecalis* (OG1RF, ATCC 29212 и E) показало существенное снижение минимальной подавляющей и минимальной бактерицидной концентрации антибактериальных препаратов при добавлении низина (200 ед/мл); статистически значимые ($p < 0,05$) отличия наблюдали для комбинаций низина с пенициллином и хлорамфениколом. На изображениях клеток *E. faecalis*, полученных с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, отмечены выраженные морфологические изменения бактерий под действием комбинаций низина с этими двумя антибиотиками. Кроме того, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия выявила более выраженное ингибирующее действие пенициллина, ципрофлоксацина и хлорамфеникола в комбинации с низином на образование биопленок энтерококками [5].

В другом исследовании была обнаружена двусторонняя синергия между низином и рамопланином (липогликодепептидный антибиотик; продуцент – *Actinoplanes* spp. ATCC 33076), что позволило обосновать концепцию эффективной комбинации ингибитора пептидогликана клеточной стенки бактерий и низина для борьбы с метициллинустойчивыми золотистыми стафилококками и ванкомицинрезистентными энтерококками, которые являются проблемой современного здравоохранения [6].

Известно, что бактерии *Streptococcus suis* (серовар 2) вызывают тяжелые инфекции у свиней, включая менингит, эндокардит и пневмонию. Кроме того, этот микроорганизм считают возбудителем возникающего зооноза у людей. Для борьбы с этим заболеванием эффективными оказались комбинации низина с пенициллином, амоксициллином, тетрациклином, стрептомицином и цефтиофуrom [7].

Антибактериальная активность бактериоцинов классов I (низин А) и IIa (педиоцин РА-1; продуцент - *Pediococcus acidilactici* UL5) в комбинации с антибиотиком (полимиксин Е) была изучена в отношении устойчивых штаммов *Listeria monocytogenes* и *Escherichia coli*. Комбинация полимиксин/низин (9,3/32, 4,7/62,5 и 0,6/15,6 мкг/мл) подавляла рост низин-резистентной *L. monocytogenes*, педиоцин-резистентной *L. monocytogenes* и полимиксин-резистентной *E. coli*, соответственно, на 94, 97 и 74% по сравнению с контролем. Полимиксин (0,21 мкг/мл) и полимиксин/низин (0,3/7,8 мкг/мл) снижали рост *E. coli* в логарифмическую фазу на 31,25 и 93,54% соответственно. Комбинация полимиксин/педиоцин (4,7/25 мкг/мл) подавляла рост *L. monocytogenes* в логарифмическую и стационарную фазы соответственно на 90,46 и 77,52% [8].

Колистин (полимиксин Е) является «лекарством последней надежды» при лечении инфекций у пациентов с муковисцидозом, вызванных грамотрицательными палочками, а также инфекционных процессов, обусловленных возбудителями с множественной лекарственной устойчивостью. Кроме того, колистин используется в свиноводстве, особенно для борьбы с эшерихиозами у поросят. Колистин в дозе 1 мг/мл почти в два раза снижает количество кишечной палочки – с 8-8,1 log КОЕ/мл до 3,9-4,1 log КОЕ/мл (за исключением колистинустойчивых штаммов, количество клеток которых снижается незначительно – до 7,3-7,4 log КОЕ/мл). Добавление двух бактериоцинов – низина (1 мг/мл) и энтероцина DD14 (продуцент - *E. faecalis* DD14; 25 мкг/мл) – приводит к эрадикации всех форм кишечной палочки (планктонных и образующих биопленки), включая резистентные штаммы *E. coli* 184 (*mcr-I*⁺) и *E. coli* 289 (*mcr-I*) [9].

Другие бактериоцины также могут усиливать действие антибиотиков. Например, с помощью метода ЦКРП (центральный композиционный рототабельный план) было показано что комбинация лантибиотика бовицина НС5

(продуцент - *Streptococcus bovis* HC5) и антибиотика хлорамфеникола является эффективной в отношении *Staphylococcus aureus* O46 [10].

Турицин CD (продуцент - *Bacillus thuringiensis* DPC6431) – двухкомпонентное соединение, относящееся к недавно описанному подклассу бактериоцинов-сактибиотиков. В экспериментах с био пленками, образованными штаммом *Clostridium difficile* 20291 R027, было показано, что турицин CD значительно потенцирует действие рифампицина, тигециклина, ванкомицина и тейкопланина. Парные комбинации этого сактибиотика с перечисленными выше антибактериальными препаратами снижают жизнеспособность другого штамма (*C. difficile* DPC6350); кроме того, в последнем случае синергидный эффект наблюдали при комбинации турицина CD с нитазоксанидом – антипаразитарным препаратом широкого спектра действия [11].

Штамм *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 продуцирует амиловорин L, двухкомпонентный бактериоцин класса IIb с антибактериальной активностью в отношении некоторых штаммов лактобацилл. Подобно другим бактериоцинам молочнокислых бактерий, амиловорин L неактивен по отношению к грамотрицательному условно-патогенному микроорганизму *Pseudomonas aeruginosa*. Однако комбинация данного бактериоцина с пептидным антибиотиком колистином в два раза снижала минимально подавляющую концентрацию последнего. Как показано на примере штамма *P. aeruginosa* PA14, рост культуры полностью подавляется при концентрации колистина в среде 2,5 мг/л. В присутствии амиловорина L (800 ед) полное подавление роста происходит уже при концентрации колистина 1,25 мг/л. Схожие результаты отмечены для штаммов *P. aeruginosa* PAO1 и 59.20 [12].

Энтероцин CRL35 (продуцент - *Enterococcus mundtii* CRL35) усиливает антимикробное действие широко используемых антибиотиков. Минимальная подавляющая концентрация тетрациклина, эритромицина и хлорамфеникола в отношении культуры *Listeria innocua* 7 составляет, соответственно, 3, 2 и 5 мг/л. Однако добавление энтероцина CRL35 в концентрации 4 нг/мл снижает значения МПК в 5-10 раз - до 0,5, 0,2 и 1 мг/л соответственно [13].

Представленные выше данные свидетельствуют, что антимикробные пептиды микробного происхождения – бактериоцины – могут быть с успехом использованы для усиления действия традиционных антибиотиков. Это особенно важно, когда необходимо купировать инфекционный процесс, вызван-

ный мульти- или панрезистентным возбудителями, или когда повышение дозы антибиотика может вызвать опасный или нежелательный побочный эффект (аллергическая реакция, токсическое действие и др.).

(Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований УрО РАН, проект № 15-4-4-28 «Анализ резистома, его фенотипических проявлений и QS-системы бактериальных популяций с целью разработки новых методов преодоления антибиотикоустойчивости микроорганизмов»).

ЛИТЕРАТУРА

1. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. The review on antimicrobial resistance. May 2016. (https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf)
2. Klaenhammer T.R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 1993. 12 (1-3): 39-85.
3. Nes I.F., Diep D.B., Håvarstein L.S. et al. Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. Antonie Van Leeuwenhoek. 1996. 70 (2-4): 113-128.
4. Shin J.M., Gwak J.W., Kamarajan P. et al. Biomedical applications of nisin. J. Appl. Microbiol. 2016. 120 (6): 1449-1465.
5. Tong Z., Zhang Y., Ling J. et al. An in vitro study on the effects of nisin on the antibacterial activities of 18 antibiotics against Enterococcus faecalis. PLoS One. 2014. 9 (2): e89209.
6. Brumfitt W., Salton M.R., Hamilton-Miller J.M. Nisin, alone and combined with peptidoglycan-modulating antibiotics: activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococci. J. Antimicrob. Chemother. 2002. 50 (5): 731-734.
7. Lebel G., Piché F., Frenette M. et al. Antimicrobial activity of nisin against the swine pathogen Streptococcus suis and its synergistic interaction with antibiotics. Peptides. 2013. 50: 19-23.
8. Naghmouchi K., Belguesmia Y., Baah J. et al. Antibacterial activity of class I and II bacteriocins combined with polymyxin E against resistant variants of Listeria monocytogenes and Escherichia coli. Res. Microbiol. 2011. 162 (2): 99-107.
9. Al Atya A.K., Abriouel H., Kempf I. et al. Effects of Colistin and Bacteriocins Combinations on the In Vitro Growth of Escherichia coli Strains from Swine Origin. Probiotics Antimicrob. Proteins. 2016. Aug 24.
10. Santos F.G., Mendonça L.A., Mantovani H.C. A central composite rotatable design (CCRD) approach to study the combined effect of antimicrobial agents against bacterial pathogens. World J. Microbiol. Biotechnol. 2015. 31 (9): 1361-1367.
11. Mathur H., Rea M.C., Cotter P.D. et al. The efficacy of thuricin CD, tigecycline, vancomycin, teicoplanin, rifampicin and nitazoxanide, independently and in paired combinations against Clostridium difficile biofilms and planktonic cells. Gut Pathog. 2016. 8: 20.
12. Moreno M.R., Baert B., Denayer S. et al. Characterization of the amylovorin locus of Lactobacillus amylovorus DCE 471, producer of a bacteriocin active against Pseudomonas aeruginosa, in combination with colistin and pyocins. FEMS Microbiol. Lett. 2008. 286 (2): 199-206.
13. Minahk C.J., Dupuy F., Morero R.D. Enhancement of antibiotic activity by sub-lethal concentrations of enterocin CRL35. J. Antimicrob. Chemother. 2004. 53 (2): 240-246.

Поступила 11.11.2016

(Контактная информация: Валышев Александр Владимирович – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией Института клеточного и внутриклеточ-

ного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11, ИКВС УрО РАН; тел. (3532) 775417; e-mail: valyshev@esoo.ru)

Образец ссылки на статью:

Валышев А.В., Валышева Н.А. Комбинация антибиотиков и бактериоцинов – эффективный способ борьбы с резистентными микроорганизмами. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2016. 4: 5с. [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-4/Articles/VAV-2016-4.pdf>).